QUANTA Flash® MPO 701133

Réactifs

Pour usage diagnostique *In Vitro*

Application

Le QUANTA Flash MPO est un test CIA (immunodosage de chimiluminescence) destiné à la détection semi-quantitative des auto-anticorps IgG anti-myéloperoxydase (MPO) dans le sérum humain sur l'appareil BIO-FLASH®. Le QUANTA Flash MPO est une aide au diagnostic de la polyangéite microscopique (PAM) qui complète les observations cliniques et d'autres tests de laboratoire.

Résumé et explication du test

Le test des anticorps cytoplasmiques anti-neutrophiles (ANCA) a révolutionné le diagnostic et le traitement des diverses vascularites auto-immunes[1]. Les ANCA périnucléaires (pANCA) et les ANCA cytoplasmiques (cANCA) ont une utilité clinique prouvée car ils facilitent le diagnotic des vascularites des petits vaisseaux, telles que la granulomatose avec polyangéite (GPA),[2] anciennement appelée granulomatose de Wegener (WG), la glomérulonéphrite à croissant nécrosante, la polyangéite microscopique (MPA) et le syndrome de Chrug-Strauss (CSS). De plus, les ANCA sont présents dans d'autres maladies, notamment la périartérite noueuse, le syndrome de Goodpasture et la maladie inflammatoire chronique intestinale.[2]

Les deux principaux antigènes ciblés par les ANCA sont la myéloperoxydase (MPO) et la sérine-protéase 3 (PR3). Plusieurs études ont été menées afin d'évaluer la prévalence des ANCA anti-PR3 et anti-MPO dans différentes maladies et de déterminer la sensibilité et la spécificité de ces auto-anticorps.[3,4]

Récemment, des tests de capture et d'ancrage ont été mis au point pour détecter les ANCA anti-PR3 et anti-MPO. Contrairement à la plupart des tests ELISA menés sur les ANCA anti-PR3 et anti-MPO, les tests de capture et d'ancrage n'immobilisent pas l'antigène par absorption. On pense donc qu'ils affichent une meilleure performance en raison de l'exposition optimale de l'antigène. La prévalence des ANCA anti-PR3 et anti-MPO dans leurs maladies apparentées dépend du groupe de patients et de la méthodologie employée pour les détecter.[3,4,5] Les ANCA anti-PR3 et anti-MPO ont un lien avec l'activité de la vascularite.[6] La plupart des experts spécialisés dans la vascularite auto-immune continuent à recommander l'utilisation du test par immunofluorescence aux neutrophiles humains fixés au formol et à l'éthanol pour un premier dépistage. Étant donné la nature progressive rapide de la vascularite des petits vaisseaux, il est très important de détecter rapidement les ANCA anti-PR3 et anti-MPO.[7,8]

Principes du test

La MPO purifiée native est revêtue sur des billes de latex paramagnétiques stockées dans la cartouche de réactifs dans des conditions préservant l'antigène dans son état réactif. Lorsque la cartouche est prête à être utilisée pour la première fois, elle est retournée plusieurs fois afin de bien mélanger les réactifs. Elle est ensuite chargée sur l'appareil BIO-FLASH®.

L'appareil prédilue un échantillon de sérum de patient à l'aide du tampon d'échantillon ajouté à une cuvette en plastique jetable. De petites quantités de sérum de patient dilué, les billes de MPO et le tampon de dosage sont tous placés dans une seconde cuvette, puis mélangés. Cette cuvette est incubée à 37 °C. Les billes sont ensuite magnétisées et lavées plusieurs fois. L'anticorps IgG antihumain conjugué à l'isoluminol est alors ajouté à la cuvette et incubé à 37 °C. Les billes sont à nouveau magnétisées et lavées plusieurs fois. Le conjugué d'isoluminol produit une réaction luminescente lorsque les réactifs (« déclencheurs ») sont ajoutés dans la cuvette. Le système optique BIO-FLASH mesure la lumière produite par cette réaction en unités de luminescence relatives (RLU). Les RLU sont proportionnelles à la quantité de conjugué d'isoluminol lié, elle-même proportionnelle à la quantité d'autoanticorps IgG anti-MPO liée à la MPO sur les billes.

Le test QUANTA Flash MPO utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot qui est chargée dans l'appareil par le biais du code-barres de la cartouche de réactifs. Selon les résultats de test de deux étalons, une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil est générée. Elle permet de calculer les unités de chimiluminescence (CU) à partir des RLU obtenues pour chaque patient.

Réactifs

1. La cartouche de réactifs QUANTA Flash MPO contient les réactifs suivants pour 50 mesures :
    a. Billes paramagnétiques revêtues de MPO, dans du tampon contenant du liquide, des stabilisateurs de protéines et un conservateur.
    b. Tampon de dosage : de couleur rose, contenant une solution saline tamponnée Tris, du Tween 20, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs.
    c. IgG marqueur : anticorps IgG antihumain marqué à l’isoluminol, contenant du tampon, des stabilisateurs de protéines et un conservateur.
    d. Tampon de dilution d'échantillon : de couleur rose, contenant une solution saline tamponnée Tris, du Tween 20, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs.

Avertissements

1. Le tampon de dosage contient un produit chimique (cloramphénicol à 0,02 %) connu dans l’État de Californie pour provoquer le cancer.
2. L'azide de sodium est utilisé comme conservateur. Il s’agit d’un poison qui peut être toxique en cas d’ingestion ou d’absorption par la peau ou les yeux. Cette substance peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des azides de métal potentiellement explosifs. Après l'évacuation des réactifs, laver à grande eau afin d'éviter des dépôts dans les canalisations et les éviers.
3. Lors de la manipulation de ces produits, utiliser un équipement de protection personnelle approprié.
4. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est pour un usage diagnostique *In Vitro*.
2. Ce test doit uniquement être utilisé dans l'appareil BIO-FLASH.
3. Une fois ouverte, cette cartouche de réactifs doit être conservée dans le carrousel de réactifs de l'appareil. Veiller à éviter les éclaboussures de réactifs la première fois que la cartouche de réactifs est placée dans l'appareil.
4. La contamination des réactifs par produit chimique peut être due à un nettoyage ou un rinçage inadapté de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou le détergent, provoquent des interférences avec le test. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur de BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les cartouches de réactifs non ouvertes entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les cartouches de réactifs ouvertes doivent être conservées à bord de l'appareil et sont stables pendant 84 jours au total, après quoi elles doivent être éliminées. Le logiciel BIO-FLASH surveille les dates de péremption des cartouches à bord et des lots de cartouches de réactifs.

Prélèvement des échantillons

Ce test doit être réalisé avec des sérums comme échantillons. Les échantillons ayant subi une contamination microbienne et thermo-traités ou contenant des particules visibles ne doivent pas être utilisés. Les sérums ou échantillons hémolysés ou ictériques sont à éviter.

Après prélèvement, le sérum doit être séparé du caillot. Le document H18-A4 du CLSI recommande de conserver les échantillons dans les conditions suivantes :

1. Conserver les échantillons à température ambiante pendant 8 heures maximum.
2. Si le test n'est pas réalisé dans les 8 heures, réfrigérer l'échantillon entre 2 et 8 °C.
3. Si le test n'est pas réalisé dans les 48 heures ou si l'échantillon doit être transporté, le congeler à -20 °C ou moins. Les échantillons congelés doivent être bien mélangés après décongélation et avant le test.

Procédure

Matériels fournis

1 Cartouche de réactifs QUANTA Flash MPO

Matériels supplémentaires requis mais non fournis

Appareil BIO-FLASH avec ordinateur

Rinçage du système BIO-FLASH (réf. : 3000-8205)

Déclencheurs BIO-FLASH (réf. : 3000-8204)

Cuvettes BIO-FLASH (réf. : 3000-8206)

Étalons QUANTA Flash MPO (réf. : 701131)

Contrôles QUANTA Flash MPO (réf. : 701132)

Utilisation de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH

1. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH. Pour toute information complémentaire et pour résoudre les problèmes liés à ce test, contacter le service technique d'INOVA Diagnostics, Inc. à l'adresse ou au numéro de téléphone indiqués à la fin de cette notice.
2. Pour vider le conteneur de déchets solides, ouvrir le tiroir de déchets. Retirer le conteneur de déchets solides et jeter les cuvettes usagées. Remettre le conteneur de déchets solides en place, fermer le tiroir de déchets, puis cliquer sur **Yes** dans la fenêtre **Empty Waste Drawer**.
3. Pour remplacer les déclencheurs, cliquer sur le bouton **F9, Bulks Inventory** (en haut à droite).
    a. À l'écran **Inventory - Bulks**, cliquer sur le bouton **Triggers** à gauche. Une nouvelle fenêtre, intitulée **Add Triggers – Remove old bottles** apparaît.
    b. Ouvrir le tiroir de déchets et le retirer de l'appareil BIO-FLASH. Éliminer les cuvettes éventuellement présentes dans le tiroir de déchets solides. Cliquer sur **Yes** dans la fenêtre **Empty Waste Drawer**. Retirer les flacons de déclencheur de leur support et cliquer sur le bouton **Next** Dévisser les anciens flacons de déclencheurs de leur capuchon et les remplacer par de nouveaux. Veiller à procéder un flacon à la fois et à faire correspondre les couleurs des capuchons (blanc avec blanc et rouge avec rouge).
    c. Suivre les instructions de la nouvelle fenêtre **Add Triggers – Add Trigger 2 bottle**. Une fois le code-barres accepté, placer le Déclencheur 2 sur le support blanc. Cliquer sur **Next**
    d. Suivre les instructions de la fenêtre **Add Triggers – Add Trigger 1 bottle**. Une fois le code-barres accepté, placer le Déclencheur 1 sur le support rouge. Cliquer sur **Finish**. Remettre le tiroir de déchets en place et le fermer.
4. Pour remplacer le conteneur de rinçage du système, cliquer sur le bouton **F9, Bulks Inventory** (en haut à droite). À l'écran **Inventory - Bulks** cliquer sur le bouton **Sys. Rinse.** Dans la nouvelle fenêtre **Add System Rinse – Remove bottles**, cliquer sur **Next.** Suivre les instructions de la nouvelle fenêtre **Add System Rinse – Add bottle**. Une fois le code-barres accepté, cliquer sur **Finish** si nécessaire.
5. Pour vider le conteneur de déchets liquides, cliquer sur le bouton **Fluid Waste** à l'écran **Inventory - Bulks**. Retirer les déchets liquides et les éliminer. Cliquer sur **Suivant**. Une fois le flacon vide remplacé, cliquer sur **Finish**.

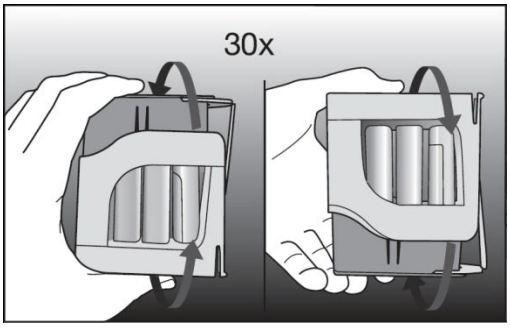
Méthode

Préparation de la cartouche de réactifs

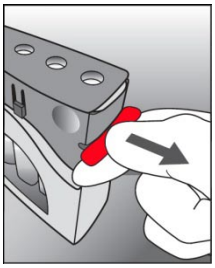
Pour la première utilisation de la cartouche de réactifs, suivre les instructions suivantes pour l'installer correctement dans l'appareil BIO-FLASH instrument. Remarque : ne pas utiliser la cartouche de réactifs en cas de détérioration visible.

Cartouche de réactifs QUANTA Flash MPO : Des microparticules peuvent se déposer lors du transport ou de l'entreposage, elles doivent être agitées pour être remises en suspension.

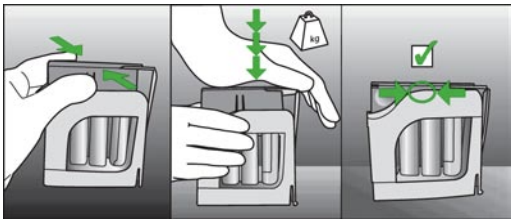
1. Lors de la première utilisation de la cartouche, la retourner délicatement 30 fois en évitant la formation de mousse. Vérifier que les microparticules sont entièrement remises en suspension. Si elles ne le sont pas, continuer de retourner la cartouche. S'il est impossible de remettre les microparticules en suspension, NE PAS UTILISER LA CARTOUCHE.



2. Lorsque les microparticules sont remises en suspension, poser la cartouche de réactifs sur une surface solide pour retirer la languette rouge. Maintenir la cartouche de réactifs en place d'une main. De l'autre main, saisir fermement la languette rouge, située à l'arrière de la cartouche de réactifs, et tirer pour la retirer complètement.



3. Appuyer sur les deux ailettes situées sur les côtés du capuchon perceur (partie grise) et appliquer une pression sur la partie supérieure de la cartouche de réactifs jusqu'à ce qu'elle s'enclenche en position verrouillée. Les ailettes ne doivent plus être visibles. NE PAS RETOURNER LA CARTOUCHE UNE FOIS OUVERTE.



4. Placer la cartouche de réactifs dans une fente ouverte du carrousel de réactifs de l'appareil BIO-FLASH. Une fois la cartouche placée dans le carrousel de réactifs, l'instrument effectue un mélange périodique supplémentaire des billes.

Étalonnage du test

1. Chaque nouveau lot de cartouches de réactifs doit être étalonné avant la première utilisation. Le logiciel ne permet pas d'utiliser un nouveau lot avant qu'il ne soit étalonné.
2. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® MPO Calibrators 701131** de cette notice pour obtenir des instructions détaillées sur l'étalonnage de la cartouche de réactifs.
3. Une fois l'étalonnage validé, le lot de cartouches de réactifs en ayant fait l'objet est prêt à l'emploi.

Programmation et analyse des échantillons

1. Appuyer sur le bouton **Worklist** en haut de l'écran, puis sélectionner l'onglet **Racks** en bas.
2. Sélectionner le portoir d'échantillons à utiliser en le mettant en surbrillance à l'écran ou en scannant son code-barres avec le lecteur manuel. Scanner le nom de l'échantillon ou le saisir, puis sélectionner le type d'échantillon, le type de conteneur (tube/cupule) et sélectionner MPO dans le volet de dosages. Recommencer ces étapes pour tous les échantillons.
3. Charger les échantillons dans les positions sélectionnées du portoir, puis charger ce dernier dans le carrousel d'échantillons de l'appareil.
4. Si tous les matériaux requis sont à bord de l'appareil, l'icône de démarrage apparaît en vert en haut de l'écran. Appuyer sur l'icône de **Start F4** pour débuter le test.

Contrôle de qualité

Les contrôles QUANTA Flash MPO (vendus séparément sous la référence INOVA 701132) contiennent à la fois des contrôles MPO positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® Controls MPO 701132** de cette notice pour obtenir des instructions détaillées sur la saisie de la valeur d'unité et de l'écart type de chaque contrôle dans le logiciel, ainsi que sur l'analyse des contrôles. Il est recommandé d'analyser les contrôles une fois par jour où le dosage est utilisé. Les utilisateurs doivent toutefois tenir compte des exigences règlementaires en vigueur.

Calcul des résultats

Une courbe maîtresse à six points est générée par INOVA pour chaque lot de QUANTA Flash MPO. Cette courbe logistique à quatre paramètres est codée dans le code-barres de chaque cartouche de réactifs. Dès que la cartouche de réactifs a été étalonnée, une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil est utilisée pour convertir les unités RLU en unités CU. La réactivité des anticorps anti-MPO peut ensuite être classée selon le tableau ci-dessous.

Réactivité	**CU**
Négatif	< 20
Positif	≥ 20

La réactivité en unités CU est directement liée au titre de l'auto-anticorps présent dans l'échantillon patient. Les augmentations et diminutions de concentrations d'anticorps patients sont reflétées par les hausses et chutes correspondantes en unités CU, qui sont proportionnelles à la quantité d'anticorps.

La plage de conformité du test s'étend de 3,2 CU à 739,8 CU. Si le résultat d'un patient est inférieur à 3,2 CU, le système BIO-FLASH indique « < 3,2 CU ». Dans la mesure où cette valeur est inférieure à 20 CU, elle est considérée comme négative. Si le résultat d'un patient est supérieur à 739,8 CU, le système BIO-FLASH indique « > 739,8 CU ». Ce résultat est considéré comme positif. Le logiciel BIO-FLASH possède une option de réexécution automatique. Lorsqu'elle est sélectionnée, l'appareil reteste automatiquement les échantillons dont le résultat est supérieur à 739,8 CU en les diluant de nouveau par un facteur de 20, puis calcule l'unité CU réelle à l'aide de ce facteur de dilution supplémentaire.

Interprétation des résultats

Le test QUANTA Flash peut détecter de petites différences dans des groupes de patients. Chaque laboratoire doit établir sa propre plage normale selon ses contrôles et son groupe de patient, mais aussi en fonction des procédures qu'il a établies.

Il est suggéré d'inclure aux résultats rapportés par le laboratoire : « Les résultats suivants ont été obtenus avec un test CIA INOVA QUANTA Flash MPO. Les valeurs obtenues avec des méthodes de test de fabricants différents ne peuvent être utilisées de façon interchangeable. L'importance des taux rapportés ne peut pas être corrélée à un titrage limite ».

Limites du test

1. Certains patients souffrant d'une polyangéite microscopique sont négatifs aux anticorps anti-MPO.
2. Les résultats de ce test doivent être utilisés conjointement aux résultats cliniques et à d'autres examens sérologiques.
3. Un mélange inapproprié des réactifs avant la première utilisation peut produire des résultats inexacts.
4. Les caractéristiques de performances de ce test n'ont pas été établies pour d'autres matrices que le sérum.

Valeurs attendues

Pour déterminer les valeurs attendues, le sérum de 400 donneurs apparemment sains a été analysé. La moyenne était inférieure à 3,2 CU et l'IC à 95 % était inférieur à 3,2 CU. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres plages de référence spécifiques de la population étudiée.

Traçabilité

Actuellement, il n’existe aucune norme internationale reconnue concernant la mesure des anticorps IgG anti-MPO. Le sérum de référence international (IS2720 n°15 ANCA anti-MPO) du CDC (Center of Disease Control and Prevention) a toutefois été testé et une concentration de 331,6 CU a été déterminée. Un test de linéarité a également été effectué ; une valeur R^2 de 1,0 a été obtenue. Un facteur de conversion de 0,3 peut être employé pour convertir les unités CU en UI/mL. Lorsque les unités UI/mL sont choisies, le logiciel BIO-FLASH utilise ce facteur de conversion pour notifier les résultats en UI/mL.

Comparaison des méthodes avec dispositif de prédiction

Les échantillons utilisés pour l'analyse de comparaison des méthodes comp Ces échantillons ont été testés avec le test QUANTA Flash MPO et le test ELISA de prédiction.

Méthode de comparaison (N = 178)		ELISA MPO			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
CIA QUANTA Flash® MPO	Positif	52	20	72	Concordance pos. = 100 % (93,2-100,2 %)
	Négatif	0	106	106	Concordance nég. = 84,1 % (76,6-90,0 %)
	Total	52	126	178	Concordance générale = 88,8 % (83,2-93,0 %)

Sensibilité et spécificité cliniques

L'étude de validation clinique comprenait 89 échantillons de granulomatose avec polyangéite (GPA), 89 polyangéites microscopiques (MPA), 10 syndromes de Churg-Strauss (CSS), 47 syndromes de Goodpasture (GPS), 73 arthrites rhumatoïdes, 101 lupus érythémateux disséminés, 7 syndromes de Sjogren, 47 maladies inflammatoires chroniques intestinales, 49 scléroses systémiques, 18 scléroses multiples, 29 virus de l'hépatite B, 19 virus de l'hépatite C, 7 virus de l'immunodéficience humaine, 10 syphilis et 66 patients souffrant d'autres pathologies. Les échantillons de 405 donneurs de sang sains ont également été ajoutés. Les patients CSS et GPS sont connus pour produire des anticorps anti-MPO. Ils ont donc été exclus du calcul de spécificité.
Les résultats de ce test sont présentés ci-dessous :

Étude clinique (N = 661)		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		MPA	Sans MPA	Total	
QUANTA Flash® MPO	Positif	71	22*	93	Sensibilité = 79,8 % (69,9-87,6 %)
	Négatif	18	550	568	Spécificité = 96,2 % (94,2-97,6 %)
	Total	89	572	661	Concordance générale = 93,9 % (91,9-95,6 %)

* Neuf échantillons discordants ont été détectés chez les patients GPA, 9 ont été détectés chez les patients GPS, 2 chez les patients IBD, 1 chez les patients CSS et 1 chez les patients souffrant d'un lupus érythémateux disséminé.

Précision et reproductibilité

La précision du test QUANTA Flash MPO a été évaluée en analysant les échantillons de 11 patients, conformément au document EP5-12 du CLSI. Les données sont résumées ci-dessous :

			Intra-analyse		Entre analyses		Sur plusieurs jours		Total	
Échantill	N	Moyenne	ET	%CV	0,0	0,0 %	ET	%CV	ET	%CV
A	84	1,9	0,2	4,8 %	0,0	0,0 %	0,3	5,8 %	0,4	7,5 %
B	84	12,7	1,3	10,4 %	0,0	0,0 %	0,9	7,4 %	1,6	12,8 %
C	80	19,0	0,7	3,8 %	0,2	0,9 %	0,8	4,0 %	1,1	5,5 %
D	80	17,6	0,7	3,8 %	0,0	0,0 %	0,5	3,1 %	0,9	5,1 %
E	80	20,2	0,8	3,9 %	0,0	0,0 %	0,7	3,2 %	1,0	5,1 %
F	84	32,4	1,4	4,3 %	0,0	0,0 %	1,2	3,8 %	1,9	5,8 %
G	84	36,0	1,4	3,9 %	0,0	0,0 %	2,1	5,8 %	2,5	7,0 %
H	84	39,0	2,3	6,0 %	0,0	0,0 %	3,3	8,5 %	4,1	10,4 %
I	84	41,5	2,2	5,3 %	0,0	0,0 %	1,8	4,4 %	2,9	6,9 %
J	84	124,1	6,3	5,0 %	0,0	0,0 %	4,8	3,9 %	7,9	6,4 %
K	84	641,0	29,0	4,5 %	0,0	0,0 %	28,4	4,4 %	40,5	6,3 %

Limites de détection ; plages de linéarité et de conformité

Conformément au document EP17-A du CLSI, la limite de détection inférieure de ce test est d'environ 560 RLU, soit 0,4 CU, c'est-à-dire bien au-dessous de la plage de conformité. La limite de détection supérieure est d'environ 1 000 000 RLU, c'est-à-dire environ 330 % au-dessus de la plage de conformité. L'ensemble de la plage de conformité, qui s'étend de 3,2 CU à 739,8 CU, est linéaire. Une étude de linéarité a été menée conformément au document EP6-A du CLSI. Les données sont résumées ci-dessous :

Échantillon	Plage de test (CU)	Pente (IC à 95 %)	Origine à l'ordonnée (IC à 95 %)	R^2
1	1,3 à 12,5	0,99 (0,96 à 1,02)	0,0 (-0,257 à 0,2)	1,00
2	3,2 à 32,1	1,00 (0,97 à 1,02)	0,6 (0,018 à 1,1)	1,00
3	8,8 à 87,7	1,01 (0,98 à 1,04)	0,7 (-0,923 à 2,3)	1,00
4	32,3 à 322,5	1,02 (0,99 à 1,05)	2,6 (-3,453 à 8,7)	1,00
5	93,9 à 939,0	0,97 (0,93 à 1,00)	32,0 (11,76 à 52,2)	0,99

Interférences

Les échantillons contenant jusqu'à 10 mg/dL de bilirubine, 200 mg/dL d'hémoglobine, 1000 mg/dL de triglycérides, 224 mg/dL de cholestérol ou 500 UI/mL de facteur rhumatoïde IgM n'ont produit aucune interférence avec le QUANTA Flash MPO.

QUANTA Flash® MPO 701131

Étalons

Pour usage diagnostique *In Vitro*

Application

Les étalons QUANTA Flash MPO sont destinés à être utilisés avec le test CIA (immunodosage par chimiluminescence) QUANTA Flash MPO sur l'appareil BIO-FLASH®. Chaque étalon établit un point de référence pour la courbe d'étalonnage servant au dosage des auto-anticorps IgG anti-myéloperoxydase (MPO) dans le sérum humain.

Résumé et principes de la procédure

Le test CIA QUANTA Flash MPO utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot, stockée dans le code-barres de la cartouche de réactifs. Les étalons QUANTA Flash MPO sont destinés à produire une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil à partir des paramètres de la courbe maîtresse, le point de décision reposant sur les caractéristiques de performance et l'évaluation clinique du test CIA QUANTA Flash MPO. Avant l'affectation de valeurs, les étalons sont testés sur plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs.

Réactifs

1. QUANTA Flash MPO Calibrators 1 (Étalons) : Deux (2) tubes étiquetés avec des codes-barres comportant un tampon contenant des anticorps anti-MPO dans du sérum humain, prédilués, prêts à l'emploi, 0,7 mL (contenant un tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs).
2. QUANTA Flash MPO Calibrators 2 (Étalons) : Deux (2) tubes étiquetés avec des codes-barres comportant un tampon contenant des anticorps anti-MPO dans du sérum humain, prédilués, prêts à l'emploi, 0,7 mL (contenant un tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs).

Avertissements

1. Les étalons contiennent un produit chimique (cloramphénicol à 0,02 %) connu dans l'État de Californie pour provoquer le cancer.
2. L'azide de sodium sert de conservateur. Il s'agit d'un poison qui peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption par la peau ou les yeux. Cette substance peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des azides de métal potentiellement explosifs. Après l'évacuation des réactifs, laver à grande eau afin d'éviter des dépôts dans les canalisations et les éviers.
3. Toutes les substances d'origine humaine utilisées pour préparer les contrôles de ce produit ont été testées et se sont avérées négatives aux anticorps anti-VIH, HBsAg et VHC par des méthodes approuvées par la FDA. Aucune méthode de test ne peut toutefois garantir que le VIH, le VHB et le VHC ou d'autres agents infectieux sont absents. Les étalons QUANTA Flash MPO doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.[9]
4. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
5. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est pour un usage diagnostique *In Vitro*.
2. Les étalons QUANTA Flash MPO sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash MPO.
3. Ne pas transférer les réactifs d'étalons dans des tubes secondaires. L'appareil utilise les codes-barres apposés sur les tubes pour mettre en correspondance les étalons avec le type de test approprié.
4. Lorsqu'un tube d'étalon est ouvert, il est utilisable jusqu'à 8 heures ou 4 étalonnages. Le réactif doit ensuite être éliminé.
5. La contamination des réactifs par produit chimique peut être due à un nettoyage ou un rinçage inadapté de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou le détergent, provoquent des interférences avec le test. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur de BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les étalons non ouverts entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les étalons ouverts doivent être éliminés après 8 heures.

Procédure

1. Chaque nouveau lot de cartouches de réactifs doit être étalonné avant la première utilisation. Le logiciel ne permet pas d'utiliser un nouveau lot avant qu'il ne soit étalonné.
2. Chaque étalon doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube d'étalon et placer ce dernier dans un portoir d'échantillons, les codes-barres pointant à travers les espaces du portoir. Placer le portoir d'échantillons dans le carrousel de l'appareil BIO-FLASH et fermer la porte. L'appareil lit les codes-barres sur les tubes d'étalons, puis identifie la cartouche de réactifs à utiliser. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.
3. L'appareil analyse chaque étalon en triple. Une fois les étalons analysés, le logiciel doit valider l'étalonnage. À l'écran **Instrument Summary** cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **Calibrations Ctrl-F3**. Dans la fenêtre Étalonnage, mettre le test souhaité en surbrillance, puis cliquer sur **Details**.
4. Dans la nouvelle fenêtre **Calibration Details**, sélectionner l'étalonnage qui vient d'être effectué. La courbe maîtresse apparaît en lignes pointillées, alors que la courbe d'étalonnage est représentée par une ligne pleine. Si les résultats de l'étalonnage sont valides, un bouton de validation apparaît dans l'angle inférieur gauche de l'écran. Cliquer sur le bouton **Validate Calibration**.
5. Une fois l'étalonnage validé, le lot de cartouches de réactifs en ayant fait l'objet est prêt à l'emploi. Il est recommandé de tester les contrôles QUANTA Flash MPO (vendus séparément sous la référence 701132) après avoir étalonné un lot de cartouches de réactifs.

Traçabilité

Actuellement, il n’existe aucune norme internationale reconnue concernant la mesure des anticorps IgG anti-MPO. Le sérum de référence international (IS2720 n°15 ANCA anti-MPO) du CDC (Center of Disease Control and Prevention) a toutefois été testé et une concentration de 331,6 CU a été déterminée. Un test de linéarité a également été effectué ; une valeur R^2 de 1,0 a été obtenue. Un facteur de conversion de 0,3 peut être employé pour convertir les unités CU en UI/mL. Lorsque les unités UI/mL sont choisies, le logiciel BIO-FLASH utilise ce facteur de conversion pour notifier les résultats en UI/mL.

Limites

Ces étalons sont conçus pour 4 étalonnages. Le temps total pendant lequel les tubes d'étalons peuvent rester sans capuchon à bord du système ne doit pas dépasser 8 heures. Au-delà, ils doivent être éliminés. L’utilisation des mêmes tubes d’étalons pour plus de 4 étalonnages et/ou pendant plus de 8 heures peut entraîner un étalonnage inadapté du test, qui peut à son tour générer des résultats erronés.

QUANTA Flash® MPO 701132

Contrôles

Pour usage diagnostique *In Vitro*

Application

Les contrôles QUANTA Flash MPO sont utilisés à des fins de contrôle de qualité du kit CIA (immunodosage de chimiluminescence) QUANTA Flash MPO sur l'appareil BIO-FLASH® servant au dosage des auto-anticorps IgG anti-myéloperoxydase (MPO) dans le sérum humain.

Résumé et principes de la procédure

Les contrôles QUANTA Flash MPO se composent d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-MPO. Le contrôle négatif est conçu pour évaluer la précision et l'exactitude du test à des niveaux d'anticorps très bas. Le contrôle positif est conçu pour évaluer la précision et l'exactitude du test à des niveaux d'anticorps modérés à élevés.

Réactifs

1. QUANTA Flash MPO Negative Controls (Contrôles négatifs) : Deux (2) tubes étiquetés avec des codes-barres comportant un tampon contenant des anticorps anti-MPO dans du sérum humain, prêts à l'emploi, 0,5 mL (contenant un tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs).

2. QUANTA Flash MPO Positive Controls (Contrôles positifs) : Deux (2) tubes étiquetés avec des codes-barres comportant un tampon contenant des anticorps anti-MPO dans du sérum humain, prêts à l'emploi, 0,5 mL (contenant un tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs).

Avertissements

1. Les contrôles contiennent un produit chimique (cloramphénicol à 0,02 %) connu dans l'État de Californie pour provoquer le cancer.
2. L'azide de sodium sert de conservateur. Il s'agit d'un poison qui peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption par la peau ou les yeux. Cette substance peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des azides de métal potentiellement explosifs. Après l'évacuation des réactifs, laver à grande eau afin d'éviter des dépôts dans les canalisations et les éviers.
3. Toutes les substances d'origine humaine utilisées pour préparer les contrôles de ce produit ont été testées et se sont avérées négatives aux anticorps anti-VIH, HBsAg et VHC par des méthodes approuvées par la FDA. Aucune méthode de test ne peut toutefois garantir que le VIH, le VHB et le VHC ou d'autres agents infectieux sont absents. Les contrôles QUANTA Flash MPO doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.[9]
4. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
5. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est pour un usage diagnostique *In Vitro*.
2. Les contrôles QUANTA Flash MPO sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash MPO.
3. Ne pas transférer les réactifs de contrôle dans des tubes secondaires. Les codes-barres apposés sur les tubes permettent à l'appareil d'identifier le contrôle.
4. Une fois ouvert, chaque tube de contrôle est utilisable jusqu'à 15 fois, avec une durée maximum à bord de l'instrument de **10 minutes par utilisation**.
5. La contamination des réactifs par produit chimique peut être due à un nettoyage ou un rinçage inadapté de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou le détergent, provoquent des interférences avec le test. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur de BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les contrôles non ouverts entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les contrôles ouverts peuvent être utilisés jusqu'à 15 fois, avec une durée maximum à bord de l'instrument de **10 minutes** par utilisation. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôle peuvent rester sans capuchon à bord du système est de 2,5 heures ou 10 minutes par utilisation. Au-delà, ils doivent être éliminés. Utiliser le même tube de contrôle plus de 15 fois et/ou pendant plus de 2,5 heures au total peut générer des résultats erronés.
3. Pour une stabilité optimale, retirer les contrôles du système immédiatement après utilisation, et les conserver entre 2 et 8 °C, rebouchés, dans leur flacon d'origine.

Procédure

Créer de nouveaux matériels CQ pour le test MPO :

1. Avant d'utiliser un nouveau lot de contrôles QUANTA Flash MPO pour la première fois, le nom, le lot, la date de péremption, la valeur (ou dose) et les informations sur l'écart type cible doivent être entrés dans le logiciel.
2. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **QC Ctrl-F2**. Cliquer sur le bouton **New QC Material**.
3. Une fiche de données spécifique au lot est jointe à chaque kit de contrôle. Introduire d'abord dans le logiciel le nom, le numéro de lot et la date de péremption figurant sur la fiche. Cliquer sur le bouton **Add Assay**. À l'écran suivant, vérifier que la case **Show All Assays** est cochée. Sélectionner le test MPO dans la liste, puis cliquer sur **Add**. Pour finir, introduire la dose cible et l'écart type cible. Cliquer sur **Save**. Effectuer cette procédure pour les deux contrôles.

Créer un nouveau lot de matériels QC existants :

1. Avant d'utiliser un nouveau lot de contrôles QUANTA Flash MPO pour la première fois, le lot, la date de péremption, la valeur (ou dose) et les informations sur l'écart type cible doivent être entrés dans le logiciel.
2. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **QC Ctrl-F2**. Mettre le test MPO en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériau de contrôle approprié en surbrillance à droite (« MPON » pour le contrôle négatif ou « MPOP » pour le contrôle positif). Cliquer sur le bouton **New QC Lot**.

3. Une fiche de données spécifique au lot est jointe à chaque kit de contrôle. Entrer les informations de cette fiche de données dans le logiciel. Elles doivent inclure le numéro de lot, la date de péremption, la dose cible et l'écart type cible. Si nécessaire, cliquer sur le bouton **Add Assay**. À l'écran suivant, vérifier que la case **Show All Assays** est cochée. Sélectionner le test MPO dans la liste, puis cliquer sur **Add**. Cliquer sur **Save**. Effectuer cette procédure pour les deux contrôles.

Il est recommandé d'utiliser les contrôles QUANTA Flash MPO une fois par jour où le test est utilisé. L'utilisateur doit toutefois tenir compte des exigences règlementaires en vigueur.

Chaque contrôle doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube de contrôle et placer ce dernier dans un portoir d'échantillons, les codes-barres pointant à travers les espaces du portoir. Placer le portoir d'échantillons dans le carrousel de l'appareil BIO-FLASH et fermer la porte. L'appareil lit les codes-barres sur les tubes de contrôles, puis identifie la cartouche de réactifs à utiliser. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.

Traçabilité

Actuellement, il n’existe aucune norme internationale reconnue concernant la mesure des anticorps IgG anti-MPO. Le sérum de référence international (IS2720 n°15 ANCA anti-MPO) du CDC (Center of Disease Control and Prevention) a toutefois été testé et une concentration de 331,6 CU a été déterminée. Un test de linéarité a également été effectué ; une valeur R^2 de 1,0 a été obtenue. Un facteur de conversion de 0,3 peut être employé pour convertir les unités CU en UI/mL. Lorsque les unités UI/mL sont choisies, le logiciel BIO-FLASH utilise ce facteur de conversion pour notifier les résultats en UI/mL.

Limites

Ces contrôles sont conçus pour 15 utilisations. L'étiquette apposée sur chaque tube de contrôle possède une rangée de 15 cases pouvant être cochées afin de suivre le nombre d'utilisations. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôle peuvent rester sans capuchon à bord du système est de 2,5 heures ou 10 minutes par utilisation. Au-delà, ils doivent être éliminés. Utiliser les mêmes tubes de contrôle plus de 15 fois ou pendant plus de 2,5 heures au total peut produire des résultats inexacts.

Bibliographie

1. Kallenberg CG: **Pathogenesis of ANCA-associated vasculitides.** *Ann Rheum Dis* 2011, **70 Suppl 1:** i59-i63.

2. Trevisin M, Pollock W, Dimech W, Savige J: **Evaluation of a multiplex flow cytometric immunoassay to detect PR3- and MPO-ANCA in active and treated vasculitis, and in inflammatory bowel disease (IBD).** *J Immunol Methods* 2008, **336:** 104-112.

3. Holle JU, Hellmich B, Backes M, Gross WL, Csernok E: **Variations in performance characteristics of commercial enzyme immunoassay kits for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies: what is the optimal cut off?** *Ann Rheum Dis* 2005, **64:** 1773-1779.

4. Mahler M, Radice A, Yang W, Bentow C, Seaman A, Bianchi L, Sinico RA. **Development and performance evaluation of novel chemiluminescence assays for the detection of anti-PR3 and anti-MPO antibodies.** *Clin Chim Acta* 2012, **413**:719-26.

5. Trevisin M, Pollock W, Dimech W, Melny J, Paspaliaris B, Gillis D *et al*.: **Antigen-specific ANCA ELISAs have different sensitivities for active and treated vasculitis and for nonvasculitic disease.** *Am J Clin Pathol* 2008, **129:** 42-53.

6. Xu PC, Chen M, Cui Z, Zhao MH: **Influence of myeloperoxidase by anti-myeloperoxidase antibodies and its association with the disease activity in microscopic polyangiitis.** *Rheumatology (Oxford)* 2010, **49:** 2068-2075.

7. Westman KW, Bygren PG, Eilert I, Wiik A, Wieslander J: **Rapid screening assay for anti-GBM antibody and ANCAs; an important tool for the differential diagnosis of pulmonary renal syndromes.** *Nephrol Dial Transplant* 1997, **12:** 1863-1868.

8. Aslam A, Newman TL, Misbah SA: **Audit of the clinical usefulness of a rapid qualitative ELISA screen for antimyeloperoxidase and antiproteinase 3 antibodies in the assessment of patients with suspected vasculitis.** *J Clin Pathol* 2003, **56:** 775-777.

9. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** *Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health* 2007, **Fifth Edition**.

Symboles utilisés

Dispositif médical de diagnostic *In Vitro*

Consulter le mode d'emploi

Limite de température

Ne pas réutiliser

Risques biologiques

Code du lot

Référence catalogue

Date de péremption

Fabricant

Représentant autorisé

Contenu suffisant pour < n > tests

Contrôle positif

Contrôle négatif

Étalon 1

Étalon 2

Carton en papier recyclable

Haut

QUANTA Flash est une marque déposée d'INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH est une marque déposée de Biokit S.A. © 2012

Fabriqué par :
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
États-Unis d'Amérique
Service technique (États-Unis et Canada uniquement) : 877-829-4745
Service technique (en dehors des États-Unis) : 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Représentant européen agréé :
Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Allemagne
Tél. : +49-6894-581020
Fax : +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621130FRA

Septembre 2012
Révision 2

CE